



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**ESTUDO COMPARATIVO ENTRE OS MÉTODOS *CALIFORNIA MASTITIS TEST*,
CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS E CULTIVO MICROBIOLÓGICO PARA
O DIAGNÓSTICO DA MASTITE CAPRINA**

JESSICA DAMIANA MARINHO VALENTE

Areia, 2015



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

MONOGRAFIA

**ESTUDO COMPARATIVO ENTRE OS MÉTODOS *CALIFORNIA MASTITIS TEST*,
CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS E CULTIVO MICROBIOLÓGICO PARA
O DIAGNÓSTICO DA MASTITE CAPRINA**

JESSICA DAMIANA MARINHO VALENTE

**Trabalho de conclusão de curso realizado/
apresentado como requisito parcial para a
obtenção do título de Bacharel em Medicina
Veterinária pela Universidade Federal da
Paraíba, sob orientação do Prof. Celso José
Bruno de Oliveira.**

Areia, 2015

Ficha Catalográfica Elaborada na Seção de Processos Técnicos da
Biblioteca Setorial do CCA, UFPB, Campus II, Areia – PB.

V154e Valente, Jessica Damiana Marinho.

Estudo comparativo entre os métodos *California mastitis test*, contagem de células somáticas e cultivo microbiológico para o diagnóstico da mastite caprina / Jessica Damiana Marinho Valente. - Areia: UFPB/CCA, 2015.
27 f. : il.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Medicina Veterinária) - Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2015.

Bibliografia.

Orientador: Celso José Bruno de Oliveira.

1. Mastite caprina – Diagnóstico 2. Caprinos – Produção de leite 3. *California mastitis test* – Estudo comparativo 4. Mastite – Caprinos I. Oliveira, Celso José Bruno de (Orientador) II. Título.

UFPB/CCA

CDU: 619:636.39



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

JESSICA DAMIANA MARINHO VALENTE

**ESTUDO COMPARATIVO ENTRE OS MÉTODOS *CALIFORNIA MASTITIS TEST*,
CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS E CULTIVO MICROBIOLÓGICO PARA
O DIAGNÓSTICO DA MASTITE CAPRINA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em **Medicina Veterinária**, pela Universidade Federal da Paraíba.

Aprovado em:

Nota:

Banca Examinadora

Msc. Candice Maria C. Gomes de Leon
Coorientador

Msc. Andréia Batista Bezerra
Examinador

Prof. Dra. Suzana Aparecida Costa Araújo
Examinador

AGRADECIMENTOS

Diante de tudo que vi e vivi, não somente em minha graduação, mas em minha vida me dei conta de algo que jamais deve ser esquecido: Ninguém percorre jornadas sozinho. Neste espaço, quero prestar uma mínima gratidão aqueles que me ajudaram a chegar aqui e fizeram de mim quem sou.

Primeiramente, a Deus por tudo. Não sou praticante de religião alguma, mas tenho fé em Deus e tento praticá-la através do amor, respeito e compaixão com o próximo. Não devemos responsabilizar apenas a Deus por tudo que acontece na nossa vida, mas acredito sim que Ele está onde e quando não depende mais de nós. Obrigada a Deus por me atender quando Vos chamei.

À minha mãe Socorro Valente. A mulher mais sensível e mais forte que já conheci. Obrigada pela vida, pela educação, pelo cuidado e pelo amor que sempre depositou sobre mim e meus irmãos. Ao meu pai José Valente. Com ele, aprendi o significado do trabalho e da honestidade. Aquele que carrega o Valente no nome, mas um coração nobre e sensível no peito.

Aos meus amados irmãos Jussiara, Geize e Geivison pela compainha de uma infância, adolescência e de uma vida. Aos meus sobrinhos Astrid e Samuel, que me fizeram descobrir um amor diferente e lindo de sentir.

Ao meu namorado Iago Carvalho pelo amor, cuidado e companheirismo que sempre demonstrou. Fomos companhia um do outro neste percurso e desejo que sempre assim seja.

Agradeço a você Candice, que desde o momento em que entrei no LAPOA sempre me ajudou, ensinou, instruiu e sempre esteve disposta a compartilhar e adquirir conhecimento. Essa virtude é de poucos e você é mais que detentora dela. Neste TCC, você está me coorientando, mas os frutos da sua orientação já venho colhendo a muito tempo.

Aos demais amigos do LAPOA: Mauro, Silvana, Andréia, Denis, Magda, Carol, Eudes, Sabrina, Fátima, Adriano, Abimael, Guilherme, Adelson (perdão se esqueci alguém). Obrigada pela imensa ajuda no laboratório. Acho importante quando se trabalha em conjunto e sempre percebi o quanto vocês fazem isso bem. Obrigada também pelas risadas por vocês proporcionadas (não foram poucas), deixam tudo mais leve.

Ao meu orientador Prof. Celso de Oliveira pelo conhecimento transmitido, por sempre fazer o melhor por nosso laboratório e, por me acolher e me fazer sentir parte do LAPOA.

Aos meus amigos da turma 2010.1. Foram muitas noites de estudos, pizzas, churrascos, viagens, experiências e confidências compartilhadas.

Ao corpo docente do curso de Medicina veterinária por transmitir o conhecimento necessário para que nos tornemos bons profissionais.

À CAPES pelo financiamento e incentivo aos projetos de pesquisa.

Por fim e não menos importante, aos animais por quem dedicamos anos de estudo e dedicaremos uma vida de amor e cuidados.

Obrigada a todos.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Escala de valores de interpretação do índice Kappa de acordo com Abaira (2001).	16
Tabela 2. Sensibilidade (S), Especificidade (E), Valor Preditivo Positivo (VPP), Valor Preditivo Negativo (VPN) e coeficiente kappa (k) do <i>California Mastitis Test</i> (CMT) e Contagem de células somáticas (CCS) com cultivo microbiológico, no diagnóstico da mastite em cabras em seis propriedades do estado da Paraíba, 2014.	19
Tabela 3. Associações do teste <i>California Mastitis Test</i> (CMT) e Contagem de células somáticas (CCS) com cultivo microbiológico, no diagnóstico da mastite em cabras em seis propriedades do estado da Paraíba, 2014.....	20
Tabela 4. Contagem de células somáticas (CCS) segundo a presença ou ausência de bactérias em leite caprino de seis propriedades do estado da Paraíba, 2014.....	21

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

apud – “citado por”

CCA - Centro de Ciências Agrárias

CCS - Contagem de Células Somáticas

cm² – centímetro quadrado

CMT - *California Mastitis Test*

CS/mL – células somáticas por mililitro

E - especificidade

et al – “e colaboradores”

FAC - Fundação de Ação Comunitária

FAO - Food and Agricultural Organization

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

k - kappa

LAPOA - Laboratório de Análise de Produtos de Origem Animal

log - logaritmo

mL - mililitro

n – número amostral

P - probabilidade

PROGENE - Laboratório do Programa de Gerenciamento de Rebanhos Leiteiros do Nordeste

S - sensibilidade

SCN - *Staphylococcus coagulase negativos*

SRD - sem raça definida

TSA - Tryptic Soy Agar

UFPB - Universidade Federal da Paraíba

UFRPE - Universidade Federal Rural de Pernambuco

VPN - valor preditivo negativo

VPP - valor preditivo positivo

WMT - *Wisconsin Mastitis Test*

µL - microlitro

RESUMO

VALENTE, Jessica Damiana Marinho, Universidade Federal da Paraíba, fevereiro de 2014. **ESTUDO COMPARATIVO ENTRE OS MÉTODOS *CALIFORNIA MASTITIS TEST*, CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS E CULTIVO MICROBIOLÓGICO PARA O DIAGNÓSTICO DA MASTITE CAPRINA.** Orientador: Celso José Bruno de Oliveira. Coorientador: Candice Maria C. Gomes de Leon.

A mastite representa um fator limitante para a produção de leite e um problema em rebanhos no mundo. Vários métodos laboratoriais têm sido recomendados a fim de diagnosticar a incidência de mastite nos rebanhos leiteiros, portanto, foi realizado um estudo comparativo entre os métodos de diagnóstico *California Mastitis Test* (CMT), contagem de células somáticas (CCS) pelos métodos eletrônico e microscópico e isolamento bacteriano, para a espécie caprina. Um total de 306 amostras de leite de metades mamárias, coletadas em três momentos da fase lactacional (início, meio e fim), de 51 cabras lactentes foram submetidas ao CMT), à CCS automática (Somacount 300 Bentley Instruments®), à CCS microscópica e ao cultivo bacteriológico em ágar sangue. Apenas 4 (7,84%) animais apresentaram sinais clínicos visíveis de mastite clínica e 114 (37,25%) das metades mamárias apresentaram crescimento em ágar sangue. CMT e CCS apresentaram uma maior especificidade que sensibilidade e, portanto, maior VPN que VPP. Os valores de k (kappa) do cultivo microbiológico apresentaram uma concordância insignificante com o CMT e concordância média com CCS. Foi observada uma associação ($p < 0,05$) entre os testes avaliados com o padrão ouro. Sugeriu-se contagens de CCS superiores a $1,0 \times 10^6$ células/mL de leite como critério para a realização de exames microbiológicos. O CMT e a CCS são mais eficientes em detectar glândulas mamárias negativas do que positivas para mastite.

PALAVRAS-CHAVE: mastite, caprinos, testes.

ABSTRACT

VALENTE, Jessica Damiana Marinho, Federal University of Paraiba, February 2014.
COMPARATIVE STUDY BETWEEN THE METHODS CALIFORNIA MASTITIS TEST, SOMATIC CELL COUNT AND MICROBIOLOGICAL GROWING FOR DIAGNOSIS OF MASTITIS IN GOATS. Advisor: Celso José Bruno de Oliveira. Coadvisor: Candice Maria C. Gomes de Leon.

Mastitis is a limiting factor in milk production and a problem in livestock worldwide. Many laboratory methods have been recommended in order to diagnose the incidence of mastitis in dairy herds, therefore, was conducted a comparative study of the diagnostic methods California Mastitis Test (CMT), somatic cell count (SCC) by electronic and microscopic methods and bacterial isolation, for the goats. A total of 306 milk samples from mammary quarters, collected in three moments of lactation stage (beginning, middle and end) of 51 infants goats were submitted to the California Mastitis Test (CMT), automatic somatic cell count (SCC), microscopic SCC and bacterial culture on blood agar. Only 4 (7.84%) animals showed visible clinical signs of clinical mastitis and 114 (37.25%) of half mammary gland showed a growth on blood agar. CMT and SCC have greater specificity than sensitivity, thus higher NPV than PPV. The values of k (kappa) of microbiological culture showed an insignificant correlation with CMT and an average agreement with SSC. An association ($p < 0.05$) between tests evaluated with the gold standard was observed. SCC scores was suggested above $1,0 \times 10^6$ cells / mL as a criterion for carrying out microbiological tests. The CMT and SCC are more efficient in detecting negative mammary glands than positive mammary glands for mastitis.

KEY WORDS: mastitis, goats, tests.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. MATERIAL E MÉTODOS	14
2.1. Amostragem	14
2.2. Isolamento bacteriano	14
2.3. Contagem de células somáticas (CCS)	15
2.4. Análise dos dados	15
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
4. CONCLUSÃO	22
REFERÊNCIAS	23

1. INTRODUÇÃO

Os caprinos estão distribuídos mundialmente, face à grande capacidade de adaptação às diversas condições climáticas, geográficas e de manejo. Sendo assim, a caprinocultura é uma atividade explorada em todos os continentes, com expressão econômica em alguns países, sobretudo nos últimos anos, quando vem apresentando crescimento em relação à quantidade e à qualidade dos rebanhos. A população de pequenos ruminantes é vista como uma fonte sustentável com excelente possibilidade de rentabilidade econômica e estabilidade demográfica, o que a torna de especial importância para as regiões áridas e semi-áridas, nas quais as raças nativas são exploradas em regimes extensivos ou semi-extensivos (SANZ SAMPELAYO et al., 2007).

Segundo Alves e Pinheiro (2003) *apud* Oliveira (2005), é amplamente conhecido no meio científico o valor nutricional do leite de cabra e sua importância na alimentação das populações, notadamente, das crianças e pessoas idosas. Recomendado pelos médicos e nutricionistas para ser consumido por crianças alérgicas ao leite de vaca por possuir pequena quantidade e estrutura diferente da proteína α -caseína, responsável pela alergia ao leite de vaca, ou ainda, como substituto do leite materno na falta deste.

Atualmente, a China é o país com o maior rebanho caprino mundial, seguido de Índia, Bangladesh e Paquistão. Em 2010, o continente asiático foi responsável por 58,7% da produção mundial de leite de cabra, o que representou mais de nove milhões de toneladas. Nas Américas, esse valor não passou de 362 mil toneladas, sendo o Brasil responsável por apenas 0,9% da produção mundial (FAO, 2012).

Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE (2012), o efetivo do Brasil soma mais de 8,64 milhões de cabeças de caprinos, representando um decréscimo de cerca de 7,9% em relação ao efetivo de 2011. Destes, a região Nordeste lidera a produção de caprinos com aproximadamente 7,84 milhões de cabeças (90,68%), seguida pelo Sul com 0,33 milhões (3,86%), sudeste com 0,22 milhões (2,55%), Norte com 0,14 milhões (1,72%) e Centro-Oeste com 0,1 milhões (1,18%). A Bahia é o estado brasileiro e nordestino detentor do maior plantel caprino, seguido por Pernambuco, Piauí e Ceará. A Paraíba ocupa o 5º lugar, com um efetivo de 473.184 de cabeças.

Os rebanhos de caprinos naturalizados e sem raça definida (SRD) constituem o maior grupo populacional no Nordeste do Brasil, porém de baixa produção de leite. Um melhor desempenho destas cabras na produção de leite depende do uso adequado de algumas técnicas de manejo e alimentação, bem como da melhoria genética dos rebanhos (FIGUEIREDO,

1988). Porém, a caprinocultura leiteira na região Nordeste vem se desenvolvendo em modelos alternativos que estimulam a geração de renda, a criação e o fortalecimento de microempresas rurais, ligadas a programas de crédito, dentro de uma visão macro do agronegócio (LIMA, 2000).

No Estado da Paraíba, existe o “Programa Leite da Paraíba”, apoiado pelo programa do Governo Federal, “Fome Zero” atende a 223 municípios paraibanos, onde são beneficiadas 120 mil famílias. O programa compra o leite dos pequenos produtores com produção diária de 10 a 50 litros/dia, onde cada produtor pode entregar na mini-usina até 20 litros de leite por dia. O programa é executado pela Fundação de Ação Comunitária (FAC) sob a coordenação da Secretaria de Estado do Desenvolvimento. Além de beneficiar as famílias carentes, esse programa também beneficia diretamente os pequenos produtores de leite do semi-árido paraibano que tem a garantia da compra de sua produção por um preço justo, o que contribui também para a geração do emprego e renda no Estado visando à melhoria da qualidade de vida da população (GOVERNO DA PARAÍBA, 2008).

Os sistemas de criação predominantes são caracterizados por baixos índices zootécnicos, em consequência da precária nutrição, dos problemas sanitários, do manejo ineficiente e do baixo potencial genético dos animais (QUADROS, 2008). Nesse sentido, a mastite representa um fator limitante para a produção de leite e um problema em rebanhos no mundo (SILVA et al., 1996). A mastite é um processo inflamatório da glândula mamária usualmente causado por bactérias, sendo a doença de maior impacto econômico na pecuária leiteira mundial. Além disso, é a principal causa de descarte de animais, e a prevenção e o tratamento desta enfermidade são responsáveis pela maior porcentagem do uso de antimicrobianos em rebanhos leiteiros (RUEGG; REINEMANN, 2002; MAKOVEC; RUEGG, 2003).

Vários métodos laboratoriais têm sido recomendados, no sentido de diagnosticar a incidência de mastite, principalmente subclínica, nos rebanhos leiteiros. Dentre elas, pode-se citar a coadura do leite (caneca telada ou de fundo preto), Califórnia Mastite Teste (CMT), Wisconsin Mastitis Teste (WMT) e a Contagem de Células Somáticas (CCS) (TORRES, 1985; CARDOZO et al., 1996). Vale ressaltar que estes métodos foram criados e patronizados para a avaliação de qualidade de leite bovino, sendo utilizados também para o leite caprino.

Entretanto, a detecção definitiva da mastite é baseada no isolamento de patógenos por meio da coleta asséptica das amostras de leite (McDOUGALL et al., 2001). No entanto, o exame bacteriológico apresenta limitações devido à exigência de exames laboratoriais, tempo

requerido para a cultura e custos. Adicionalmente a isso, os testes bacteriológicos nem sempre são confiáveis (McDOUGALL et al., 2001; PYÖRALÄ, 2003), sendo reportado que o isolamento bacteriano pode não ser identificado em mais de 20% das amostras (MAKOVEC; RUEGG, 2003; TAPONEN et al., 2009).

Assim, a contagem de células somáticas (CCS), sendo uma expressão direta da severidade do processo inflamatório, é o parâmetro usualmente utilizado para avaliar a saúde do úbere em relação à qualidade e higiene do leite e monitoramento em programas de controle de mastites (HARMON, 1994).

A expressão “células somáticas” é aplicada para designar leucócitos e células epiteliais provenientes da esfoliação dos ácinos galactóforos do úbere, cisterna mamária e cisterna do teto e são eliminadas no leite durante o curso normal da lactação (GALIERO; MORENA, 2000). Do total de células somáticas, 75 a 98% correspondem a células de defesa e 2 a 25%, de células epiteliais (RIBAS, 1994).

Outro método amplamente difundido como auxiliar no diagnóstico da mastite subclínica em bovinos é o California Mastitis Test (CMT), desenvolvido por Schalm & Noorlander em 1957. Esse método mede indiretamente a concentração de leucócitos no leite. Entre suas vantagens citam-se a rapidez, fácil manejo e exatidão, podendo ser utilizado a campo ou no laboratório (SILVA et al., 1996).

A falta de padrões que sejam mundialmente aceitos para diagnosticar o problema dificulta o tratamento para a mastite caprina. E se tratando de CCS, o leite caprino apresenta uma contagem fisiológica elevada em comparação ao bovino. Segundo Zeng (1996), não é rara a ocorrência de cabras com contagens superiores a 1.000.000 CS/mL e, essas altas contagens acentuam-se ao final da lactação, mesmo com ausência de infecções intramamárias. Outra particularidade do leite caprino são as partículas citoplasmáticas oriundas do processo de secreção láctea que, nessa espécie, é classificada como apócrina. Assim, na liberação do leite pela glândula mamária de cabras, uma porção das células secretoras é desprendida. (ANDRADE et al., 2001).

Vários estudos têm indicado e confirmado diferenças fisiológicas e microbiológicas entre a glândula mamária caprina e a bovina, demonstrando que devem ser realizadas adaptações para os caprinos, determinando escores que melhor reflitam o verdadeiro estado sanitário da glândula mamária nesta espécie (SILVA et al., 2001). Portanto, ainda há a necessidade de estudos para a padronização das técnicas para o leite caprino.

O objetivo desse trabalho é realizar um estudo comparativo entre os métodos de diagnóstico California Mastitis Test, contagem de células somáticas (CCS) pelos métodos eletrônico e microscópico e isolamento bacteriano, para a espécie caprina. Especificamente, comparar resultados da CCS automática, calibrado para leite bovino, com a CCS microscópica; correlacionar os dois métodos de CCS com os resultados obtidos no CMT e no isolamento bacteriano; sugerir limites de CCS para a espécie caprina.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. AMOSTRAGEM

Foi realizado em seis propriedades rurais produtoras de leite caprino localizadas na região do Cariri Oriental da Paraíba, sendo estas selecionadas através de sorteio utilizando-se informações disponibilizadas pelas associações de produtores. Foram avaliadas 51 cabras lactentes mestiças das raças Saanen e Anglo Nubiana.

O período amostral compreendeu os meses de janeiro a setembro de 2014, com amostras de leite de cada teto coletadas em três momentos da fase lactacional (início, meio e fim) com intervalo de 50 dias entre as mesmas, totalizando 306 amostras de leite. Todas as propriedades utilizavam ordenha manual e realizada uma vez ao dia.

Antes da ordenha matinal, foi realizada a assepsia dos tetos com álcool 70%, os três primeiros jatos de leite descartados e seguiu-se para o *California Mastitis Test*, e para este foram atribuídos os escores 0, 1+, 2+ e 3+, respectivamente para a ausência de reação, presença de grumos sem gelificação, imediata formação de gel e ocorrência de gelificação e aderência. Em seguida, procedeu-se a coleta de 100 mL de leite em frascos estéreis, com armazenamento em caixas isotérmicas e transporte ao Laboratório de Análise de Produtos de Origem Animal (LAPOA), localizado no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba (CCA/UFPB) para a realização da contagem de células somáticas (CCS) e cultivo microbiológico.

2.2. ISOLAMENTO BACTERIANO

Para isolamento primário dos microrganismos, o leite foi semeado em ágar sangue de carneiro à 5% desfibrinado e incubadas a 37 °C em aerobiose, realizando observações de crescimento após 24, 48 e 72 horas. Com base nas características morfológicas, tintoriais, e ainda presença de atividade hemolítica, as colônias foram identificadas e isoladas em Tryptic Soy Agar (TSA) e submetidas à verificação microscópica em esfregaços corados pelo método de Gram, teste da catalase e coagulase em tubo para identificação do gênero de acordo com Quinn (1994).

2.3. CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS)

A CCS foi realizada por dois métodos: contagem eletrônica e contagem microscópica.

A contagem microscópica foi realizada por microscopia direta segundo a metodologia descrita por Prescott e Breed (1910), tendo como suporte o guia proposto pela National Conference on Interstate Milk Shipments (2005). Um volume de 10 μL foi distribuída em uma área de 1 cm^2 em lâmina de vidro previamente limpa e desengordurada. Após a secagem, para a fixação do esfregaço, as lâminas foram mantidas por 5 min em solução de Carnoy (composto por clorofórmio, ácido acético glacial e álcool etílico absoluto), 1 min em álcool etílico 30% e 1 min em água destilada e secadas em temperatura ambiente. Em seguida, para a coloração do esfregaço, as lâminas foram mantidas em corante Pironina Y (Pironina Y, verde metil e água destilada) durante 6 min, retirado o excesso do corante e secagem em temperatura ambiente. A seguir, as lâminas foram mantidas por 1 min em butanol, 1 min em xileno e 1 min em água destilada e secagem em temperatura ambiente.

A contagem foi realizada em microscópio óptico (E200, Nikon) utilizando aumento de 1.000x. A interpretação dos tipos celulares foi realizada de acordo com guia atualizado por Fitts e Murphy (2004), com contagem de células diferenciais em polimorfonucleares, mononucleares e células descamativas. Procedeu-se a contagem de 60 campos microscópicos. Após a contagem foi feita a média de células por campo e o número de células foi determinado com o auxílio da seguinte equação: $N = FM \times X \times 100$, onde: “N” é o número total de células somáticas em cada esfregaço; “FM” o fator microscópico; “x” a média de células por campo e 100 o fator de conversão de μL para mL.

A contagem eletrônica foi realizada pelo método de citometria de fluxo, em contador eletrônico em 1000 células/mL através do equipamento Somacount 300 da Bentley Instruments® USA, calibrado para leite bovino. Essa análise foi efetuada na Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, no Laboratório do Programa de Gerenciamento de Rebanhos Leiteiros do Nordeste (PROGENE), vinculado ao departamento de Zootecnia.

2.4. ANÁLISE DOS DADOS

Para o isolamento bacteriano, a amostra de leite foi considerada positiva quando houve o crescimento de três ou mais colônias não hemolíticas, ou apenas uma colônia hemolítica.

Os resultados do CMT foram transformados conforme o proposto por Silva *et al.* (2004), onde reações com valores $>2+$ eram consideradas positivas. Ainda, Mota (2008) e Almeida (2009) relatam que em decorrência do maior número de células somáticas no leite de

fêmeas caprinas, e estudos anteriores, há uma maior confiabilidade do CMT quanto à sua sensibilidade a partir do nível de 2+. Já os valores de CCS foram logaritmicamente (\log_{10}) transformados e determinados os seus valores médios, mediana, desvio padrão, valores máximos e mínimos com o uso de planilha eletrônica (Microsoft Excel®).

Os valores de CCS foram dicotomizados considerando o percentil 75 do banco de dados, utilizando 5,97 log.CS/mL e 6,05 log.CS/mL como limite para CCS microscópica e eletrônica, respectivamente.

Características diagnósticas do CMT, CCS microscópica e CCS eletrônica para identificar infecções intramamárias foram determinadas por meio da sensibilidade, especificidade, valor preditivo do teste positivo e valor preditivo do teste negativo, através das seguintes fórmulas:

$$S = \frac{A}{A+C} \times 100$$

$$E = \frac{D}{D+C} \times 100$$

$$VPP = \frac{A}{A+B} \times 100$$

$$VPN = \frac{D}{C+D} \times 100$$

Onde, A = verdadeiros positivos, B = falsos positivos, C = falsos negativos e D = verdadeiros negativos.

Adicionalmente, foi determinado o índice kappa que é uma medida de concordância usada em escalas nominais que nos fornece uma ideia do quanto as observações se afastam daquelas esperadas, fruto do acaso, indicando-nos assim o quão legítimas as interpretações são. Foi utilizada a escala de valores de acordo com Abaira (2001) como pode ser visualizado na tabela a seguir.

Tabela 1. Escala de valores de interpretação do índice Kappa de acordo com Abaira (2001).

Kappa (k)	Grau de concordância
<0,00	Sem concordância
0,00-0,20	Insignificante
0,21-0,40	Média
0,41-0,60	Moderada
0,61-0,80	Substancial
0,81-1,00	Concordância perfeita

Para avaliar possíveis associações entre a presença do isolamento bacteriano e as variáveis independentes (CMT e CCS) realizou-se um teste de qui-quadrado, adotando o nível de 5% de significância. Para comparação entre as médias de CCS utilizou-se o teste não

paramétrico de Mann-Whitney ($P < 0,05$) Os dados foram analisados utilizando o programa estatístico SAS – *Statistic Analysis System* (SAS versão 9.1, 2003).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre os 51 animais submetidos a exames de palpação e inspeção, apenas 4 (7,84%) animais apresentaram sinais clínicos visíveis de mastite clínica, sendo portanto 92,16% animais negativos ao exame visual. Valores similares são reportados na literatura, demonstrando que a mastite do tipo subclínica é a que mais predomina nos rebanhos de pequenos ruminantes, cuja prevalência estimada está entre 30 - 50%, podendo ser ainda maior. Em contrapartida, a mastite com evidências clínicas apresenta-se em níveis abaixo de 5%, podendo alcançar maiores taxas em determinadas situações (CREMOUX, MENARD, 1996; CONTRERAS et al., 1999; CONTRERAS et al. 2007).

Pesquisas em rebanhos de caprinos leiteiros indicam que a frequência aceitável de mastite varia de 13 a 20% (PUGH, 2002). Neste estudo das 306 amostras, 114 (37,25%) apresentaram crescimento em ágar sangue sendo consideradas positivas, indicando que a infecção encontra-se acima dos limites aceitáveis. Destes, 73 (64,04%) eram pertencentes ao gênero *Staphylococcus* spp., sendo 53 (46,49%) coagulase negativos e 20 (17,54%) coagulase positivos. Verificou-se ainda a presença de microrganismos do gênero *Bacillus*, gram negativos e não identificáveis (devido a contaminação), representando 35, 96% da amostragem positiva ao exame microbiológico.

Os principais microrganismos isolados de casos de mastite em caprinos e ovinos no Brasil são os *Staphylococcus* spp. (MOTA et al., 2000; COUTINHO et al., 2006; DOMINGUES et al., 2006; LANGONI et al., 2006; ALMEIDA, 2009; BOLSANELLO et al., 2009), corroborando com os resultados encontrados supracitados neste estudo.

Uma das principais características da mastite diz respeito à diversidade de agentes com potencial patogênico. Dentre estes, destacam-se os *Staphylococcus* coagulase negativo (SCN), que para outras espécies animais são considerados patógenos menores. Segundo Taponen e Pyörälä (2009), o isolamento de SCN geralmente está associado à ausência de sinais clínicos evidentes, atestando o conferido nos resultados obtidos. O fato de os SCN serem transmitidos de forma latente durante e após a ordenha torna-se uma preocupação ainda maior para

profissionais da área e pesquisadores, uma vez que essa característica dificulta a prevenção e controle da infecção no rebanho (HARMON & LANGLOIS, 1989).

Além disso, apesar de serem reportados como patógenos de menor patogenicidade, estudos recentes (LYRA et al., 2013) afirmam o surgimento da resistência antimicrobiana e produção de enterotoxinas em SCN isolados de leite caprino, representando um risco em potencial para a cadeia produtiva, bem como a saúde pública.

Em relação ao diagnóstico indireto de mastite, observou-se 84 amostras foram positivas e 221 negativas no teste CMT, sendo 45 amostras também positivas no exame bacteriológico constituindo resultados verdadeiros positivos. Já, 69 amostras positivas no bacteriológico foram negativas no CMT, constituindo-se em resultados falsos negativos e, portanto, fonte de infecção em potencial. Este resultado pode ser decorrente de infecção latente ou que não houve ainda estímulo ao aumento do número de células somáticas (NDEGWA et al., 2000). Da mesma forma, os corpúsculos citoplasmáticos, por não apresentarem núcleo, não reagem ao CMT e, conseqüentemente, não interferem nos resultados deste teste (PETTERSEN, 1981).

Na contagem de células somáticas microscópica foi observado que 76 amostras apresentaram contagem igual ou maior que o percentil 75 ($9,28 \times 10^5$ cs/mL) e destas 29 (38,16%) amostras foram negativas ao exame bacteriológico, constituindo-se em falsos positivos. De maneira semelhante, para a contagem eletrônica foi observado que 79 amostras foram positivas (percentil 75 = $1,13 \times 10^6$ cs/mL) e destas 30 (37,97%) amostras foram negativas ao considerado padrão ouro para diagnóstico, revelando-se como falsos positivos. Sabe-se que o desencadeamento da mastite está vinculado à complexa tríade – animal, agente etiológico e meio ambiente. Os fatores determinantes que influenciam na susceptibilidade à mastite incluem: resistência natural da glândula mamária, estágio da lactação, hereditariedade, idade do animal, espécie, infectividade e patogenicidade do agente (PRESTES et al., 2002). Além disso, numerosas partículas citoplasmáticas são desprendidas da superfície apical das células secretórias durante a secreção láctea em caprinos e somente métodos específicos para detectar DNA podem distinguir estas partículas de células somáticas (SANTOS et al., 2004), justificando a microscopia direta também utilizado no presente estudo.

Observou-se que o CMT (Tabela 2), apresentou-se como um método de baixa capacidade de reconhecer os verdadeiros positivos em relação ao total de animais considerados doentes, porém consegue distinguir os verdadeiros negativos em relação ao total de doentes. Resultados semelhante foram obtidos, reportando valores de especificidade

maiores que de sensibilidade para CMT (SANTOS et al., 2004; TONIN, NADER FILHO, 2005).

De forma semelhante ao CMT, a CCS apresentou uma maior especificidade que sensibilidade e, portanto, maior VPN que VPP, sendo mais eficaz em reconhecer verdadeiros negativos, corroborando com resultados encontrados por Santos *et al.* (2004). Quando comparados os resultados da contagem microscópica com a eletrônica observamos certa similaridade, porém a contagem eletrônica apresentou valores mais elevados.

Tabela 2. Sensibilidade (S), Especificidade (E), Valor Preditivo Positivo (VPP), Valor Preditivo Negativo (VPN) e coeficiente kappa (k) do *California Mastitis Test* (CMT) e Contagem de células somáticas (CCS) com cultivo microbiológico, no diagnóstico da mastite em cabras.

Parâmetros (%)	CMT	CCS microscópica	CCS eletrônica
S	39,47	41,23	42,98
E	79,69	80,69	84,38
VPP	53,57	54,65	62,03
VPN	68,92	70,87	71,37
k	0,20	0,28	0,29

Os valores de k (kappa) apresentaram uma concordância do cultivo microbiológico com o CMT insignificante apesar de revelar elevada especificidade. As contagens de células somáticas apresentaram uma concordância média sendo assim, mais precisas no diagnóstico da mastite para a espécie caprina.

Silva *et al.* (2001) estudaram a associação entre o CMT e a CCS objetivando a avaliação da saúde da glândula mamária caprina, sendo observada uma correlação positiva entre estes dois testes. Porém, foram observadas elevadas contagens de células em amostras negativas à lactocultura, denotando que o CMT pode ser usado como teste de triagem no diagnóstico da mastite, devendo-se sempre associá-lo ao exame microbiológico para um diagnóstico definitivo.

Na tabela 3 estão apresentados os resultados obtidos pela associação entre o cultivo microbiológico e os testes indiretos de diagnósticos da mastite (CMT e CCS). Foi observada uma associação ($p < 0,05$) entre os testes avaliados com o padrão ouro. Observou-se que as maiores frequências nas associações quando o teste indireto e o exame bacteriológico eram negativos confirmando assim a elevada especificidade relatada.

Notadamente, vários trabalhos têm sido realizados na tentativa de estabelecer a CCS de cabras não infectadas, mas a comparação dos resultados constitui uma tarefa árdua, em

decorrência da quantidade de fatores biológicos e instrumentais que podem interferir neste parâmetro (ANDRADE et al., 2001). Os estudos são divergentes quanto à utilização do aparelho eletrônico, calibrado para espécie bovina, sendo encontrada tanto correlação positiva com a microscopia direta (ANDRADE et al., 2001), quanto o inverso, com superestimação da CCS (ZENG, 1996). Neste estudo, ao avaliarmos as formas de contagem de células somáticas, microscópica e eletrônica, foi observado uma concordância perfeita ($k = 0,87$), mesmo sendo a contagem eletrônica calibrada para leite bovino.

Tabela 3. Associações do teste *California Mastitis Test* (CMT) e Contagem de células somáticas (CCS) com cultivo microbiológico, no diagnóstico da mastite caprina.

Variavéis	Categorias	n (%)	P
CMT			
0	Negativo	50,00	0.0003*
	Positivo	22,55	
1	Negativo	12,75	
	Positivo	14,71	
CCS microscópica			
0	< 5,97 logCS/mL	53,27	<.0001*
	≥ 5,97 logCS/mL	9,48	
1	< 5,97 logCS/mL	21,90	
	≥ 5,97 logCS/mL	15,36	
CCS eletrônica			
0	< 6,05 logCS/mL	52,94	<.0001*
	≥ 6,05 logCS/mL	9,80	
1	< 6,05 logCS/mL	21,24	
	≥ 6,05 logCS/mL	16,01	

*Associação significativa ao nível 5% de probabilidade pelo teste do qui-quadrado

Trabalhos desenvolvidos no Brasil têm mostrado que os valores máximos, mínimos e médios de CCS são bem próximos, sendo encontrados valores elevados de CCS tanto na presença, como ausência de crescimento bacteriano (SANTOS et al., 2004; VILANOVA et al., 2008). Isto pode ser decorrente do fato de que células não leucocitárias são normalmente observadas como resultado do processo de secreção da glândula mamária (OLISZESWIKI et al., 2002).

Pessoa *et al.* (1999) estudaram o limiar de células somáticas no leite de cabras em Pernambuco, sendo observada uma alta similaridade entre a cultura positiva e escores $\geq 1.000.000$ cél./mL na CCS.

Sugere-se que a CCS pode ser utilizada para a detecção da mastite caprina, devendo-se utilizar contagens superiores a $1,0 \times 10^6$ células/mL de leite como critério para a realização de

exames microbiológicos (PAES et al., 2003). De acordo com a Tabela 4, os valores de CCS são bem similares, porém observamos que as média de CCS com exame bacteriológico positivo $2,6 \times 10^6$ CS/mL (5,91 logCS/mL) na microscópica e $2,0 \times 10^6$ CS/mL (5,70 logCS/mL) na eletrônica, sobressaem-se ao limiar relatado por Paes *et al.* (2003). Além disso, a média de CCS obtida das amostras com exame bacteriológico negativo, $1,0 \times 10^6$ CS/mL (5,49 logCS/mL) na microscópica e $0,7 \times 10^6$ células/mL (5,19 logCS/mL) na eletrônica, são inferiores/iguais ao limiar supracitado. Além disso, houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as médias, com maior CCS para as amostras com bacteriológico positivo. Assim, o valor sugerido de $1,0 \times 10^6$ células/mL de leite é o ponto de corte mais indicado, como triagem para a realização do exame bacteriológico.

Tabela 4. Contagem de células somáticas (CCS) segundo a presença ou ausência de bactérias em leite caprino de seis propriedades do estado da Paraíba, 2014.

Variáveis	CCS microscópica		CCS eletrônica	
	Exame bacteriológico positivo	Exame bacteriológico negativo	Exame bacteriológico positivo	Exame bacteriológico negativo
Média	5,91 ^a	5,49 ^b	5,70 ^a	5,19 ^b
DP (±)	0,67	0,53	0,89	0,79
Mediana	5,76	5,34	5,70	5,13
Mínima	4,84	4,72	3,30	3,78
Máxima	7,54	7,50	7,01	6,91
Percentil 25	5,35	5,14	4,98	4,55
Percentil 75	6,57	5,70	6,54	5,65

Valores expressos em log.CS/mL;

Médias seguidas de letras diferentes nas linhas diferem entre si pelo teste de Mann-Whitney ($P < 0,05$).

5. CONCLUSÃO

Conclui-se que SCN são os principais patógenos envolvidos na infecção intra-mamária de caprinos.

O CMT e a CCS apresentaram baixos coeficientes de sensibilidade e elevados coeficiente de especificidade, em especial da CCS eletrônica (84,38%), apontando que estes testes são mais eficientes em detectar glândulas mamárias negativas do que positivas para mastite.

Os maiores valores de CCS foram encontrados em metades mamárias em cabras com presença da infecção intramamária. Além disso, os valores mais elevados de SCC foram encontrados no método de contagem por microscopia direta.

Conclui-se que valores de CCS acima de 1000.000 CS/mL são um indicativo de infecção da glândula mamária, contudo o exame microbiológico do leite é o melhor método conclusivo para o diagnóstico da mastite subclínica.

REFERÊNCIAS

ABRAIRA, V. El índice kappa. **Semergen**, v. 27, p. 247 – 249, 2000.

ALMEIDA, J.F. **Agentes infecciosos causadores de mastite e parâmetros físico-químicos na qualidade do leite de cabra in natura**. Rio de Janeiro 106p. 2009. Tese de Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, RJ. 106p. 2009

ANDRADE, P. V. D.; SOUZA, M.R.; BORGES, I.; PENNA, C.F.A.M. Contagem de células somáticas em leite de cabra. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, n.3, p.396-400, 2001.

BOLSANELLO, R.X.; HARTMAN, M.; DOMINGUES, P.F.; MELLO JÚNIOR, A.Z.; LANGONI, H. Etiologia da mastite em ovelhas Bergamácia submetidas à ordenha mecânica, criadas em propriedade de Botucatu, SP. **Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, v. 16, n. 1, p. 221-227, mar. 2009.

CARDOZO, R.M. Avaliação de testes para diagnóstico de mastites subclínicas em bovino de leite. **Revista Unimar**, Maringá, v. 18, n. 3, p. 627-636, 1996.

CONTRERAS, A.; PAAPE, M.J.; MILLER, R.H. Prevalence of subclinical intramammary infection caused by *Staphylococcus epidermidis* in commercial dairy goat herd. **Small Ruminant Research**, Newton, v. 31, p. 203 - 208, 1999.

COUTINHO, D.A.; COSTA, J.N.; RIBEIRO, M.G.; TORRES, J.A. Etiologia e sensibilidade antimicrobiana in vitro de bactérias isoladas de ovelhas da raça Santa Inês com mastite subclínica. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 7, n. 2, p.139-151, 2006.

CREMOUX, R.; MENARD, J.L. Influence des infections mammaires sur la quantite de lait et les taux. **Reussir - La Chevre**, França, n. 213, p. 32 - 34, 1996.

DOMINGUES, P.F.; LUCHEIS, S.B.; SERRÃO, L.S.; FERNANDES, L.S.; CONTENTE, A.P.A.; MARTINS E.C.V.; LANGONI, H. Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastite subclínica em ovelhas da raça Santa Inês. **Ars Veterinaria**, v.22, n.2, p.146-152, 2006

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. Banco de dados FAOSTAT. Disponível em: <<http://www.faostat.fao.org>>

FIGUEIREDO, E. A. P. Recursos genéticos e programas de melhoramento da espécie caprina no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 7., 1987, Belo Horizonte. **Anais...** Campinas: Fundação Cargil, 1988. p. 96-120.

FITTS, J.; MURPHY, S. Direct microscopic somatic cell count guideline - Rules and Examples for Counting Somatic Cells in Milk. Department of Food Science, **Cornell University**, Jul., 2004. Disponível em: <https://foodsafety.foodscience.cornell.edu/sites/foodsafety.foodscience.cornell.edu/files/share/d/documents/CU-DFScience-Notes-Milk-Somatic-Cell-Counting-06-10.pdf>. Acesso em: 24 nov. 2014

GALIERO, G.; MORENA, C. The meaning of the somatic cell count in buffalo milk. **Bubalus bubalis**, v. 4, p. 26-27, 2000.

GOVERNO DA PARAÍBA. Programa do leite da Paraíba, 2008. Disponível em: <http://www.fac.pb.gov.br/pagina.html?programas>.

HARMON, R. J., LANGLOIS, B. E. Mastitis due to coagulase-negative *Staphylococcus* species. **Agri-Practice**, v. 10, p. 29, 1989.

HARMON, R.J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. **Journal of Dairy Science**. v. 77, p. 2103-2112, 1994.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Tabelas 2012:** Efetivos dos rebanhos. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2012/default_pdf.shtm. Acesso em: 24 nov. 2014.

LANGONI, H.; DOMINGUES, P.F.; BALDINI, S. Mastite caprina: seus agentes e sensibilidade frente a antimicrobianos. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 13, n. 1, p. 51-54, 2006

LIMA, L.A.A. Ovinocaprinocultura na Agricultura Familiar. Sobral - CE: **Informativo do Centro Nacional de Caprinos CNPq/EMBRAPA**; 2000.

LYRA, D. G.; SOUSA, F. G.; BORGES, M. F.; GIVISIEZ, P. E.; QUEIROGA, R. C.; SOUZA, E. L.; GEBREYES, W. A.; OLIVEIRA, C. J. Enterotoxin-encoding genes in *Staphylococcus* spp. from bulk goat milk. **Foodborne pathogens and disease**. v.10, n.2, 126-130, feb. 2013.

MAKOVEC, J.A.; RUEGG, P.L. Results of milk samples submitted for microbiological examination in Wisconsin from 1994 to 2000. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.3466-3472, 2003.

McDOUGALL, S.; MURDOUGH, P.; PANKEY, W.; DELANEY, C.; BARLOW, J.; SCRUTON, D. Relationship among somatic cell count, California mastitis test, impedance and bacteriological status of milk in goats and sheep in early lactation. **Small Ruminant Research**, v.40, p.245-254, 2001.

MOTA, R.A. Aspectos epidemiológicos, diagnóstico e controle das mastites em caprinos e ovinos. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.2, n.3, p.57-61, set. 2008.

MOTA, R.A.; DE CASTRO, F.J.C.; DA SILVA, L.B.G.; OLIVEIRA, A.A.F. Etiologia e sensibilidade a antimicrobianos in vitro das bactérias isoladas do leite de cabras com mastite procedentes da Região Metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, v. 19, n. 114, p. 26 – 29, 2000.

NATIONAL CONFERENCE ON INTERSTATE MILK SHIPMENTS (NCIMS). **DIRECT MICROSCOPIC SOMATIC CELL COUNT**. U. S. Food and Drug Administration, Cornell University, June, 2005. Disponível em: <http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/Milk/ucm075202.htm>. Acesso em: 24-11-2014

NDEGWA, E.N.; MULEI, C.M.; MUNYUA, S.J. The prevalence of subclinical mastitis in dairy goats in Kenya. **Journal of the South African Veterinary Association**, África do Sul, v. 71, n. 1, p. 25 - 27, 2000.

OLIVEIRA, S. C. P. L. **Características da Pasteurização do Leite de Cabra Adotada em mini-usinas do Cariri Paraibano**. Patos, 2005. 56p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária de pequenos ruminantes) Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2005.

OLISZEWSKI, R.; KAIRUZ de NUNES, M.S.; ELIAS de GONZALES, S.N.; OLIVER, G. Assesment of beta-glucuronidase levels in goat's milk as na indicator of mastitis: comparision with other mastitis detection methods. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 65, n. 5, p. 864 - 866, 2002.

- PAES, P.R.O.; LOPES, S.T.A.; LOPES, R.S.; KOHAYAGAWA, A.; TAKAHIRA, R.K.; LANGONI, H. Efeitos da administração de vitamina E na infecção mamária e na contagem de células somáticas de cabras primíparas desafiadas experimentalmente com *Staphylococcus aureus*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 55, n. 1, p. 15-20, 2003.
- PETTERSEN, K.E. Cell content in goats milk. **Acta Veterinary Scandinavia**, Dinamarca, v. 22, n. 2, p. 226 - 237, 1981
- PRESCOTT, S. C.; BREED, R. S. The determination of the number of the body cells in milk by a direct method. **Journal of Infectious Diseases**, v.7, p.632-640, 1910.
- PESSOA, A.L.P.; LIMA JUNIOR, A.D.; MOTA R.A. Estudo do limiar de células somáticas no leite de cabras na região metropolitana de Recife e agreste de Pernambuco. **Ciência Veterinária nos Trópicos**. v. 2, n. 2, p. 100-107, 1999.
- PRESTES, D.S.; FILAPPI A.; CECIM, M. Susceptibilidade à mastite: fatores que a influenciam - uma revisão. **Revista da FZVA**, v. 9, n. 1, p. 118-132, 2002.
- PUGH, D.G. Sheep and Goat Medicine. **W.B. Saunders**, New York, p.341-358, 2002.
- PYÖRÄLÄ, S. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. **Veterinary Research**, v.34, p.565-578, 2003.
- QUADROS, D. G. Leite de cabra: produção e qualidade. **Pubvet**. v. 2, n. 1, jan. 2008.
- QUINN, P. J.; CARTER, M. E.; MARKEY, B. K. e CARTER, G. R. **Clinical Veterinary Microbiology**. Mosby-Year Book Europe, London ,1994.
- RIBAS, N.P. Análise do Leite. **Revista de Gado Holandês**, São Paulo, v. 2, n. 18, p. 26–31, 1994.
- RUEGG, P.L.; REINEMANN, D.J. Milk quality and mastitis test. **Bovine Practice**, v.36, p.41-54, 2002.
- SANTOS, A.R.; SCHERER, S.; SCHMIDT, V. Validação da Contagem de células somáticas e “California Mastitis Test” como método diagnóstico da mamite em caprinos. **Revista de Ciências Agroveterinárias**. v. 3, n. 1, p. 50-55, 2004.
- SANZ SAMPELAYO, M. R. et al. Influence of type of diet on the fat constituents of goat and sheep milk. **Small Ruminant Research**. v. 68, p. 42-63, 2007.

SCHALM, O. W. NOORLANDER, D. O. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. **Journal American of the Veterinary Medical Association**, v.130, p. 199-207, 1957.

SILVA, E. R., ARAUJO, A. M., ALVES, F.S., PINHEIRO, R.R. Contagem de células somáticas e California Mastitis Test no diagnóstico da mastite caprina subclínica. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 18, p. 78-83, 1996.

SILVA, E. R.; ARAÚJO, A. M.; ALVES, F. S. F.; PINHEIRO, R. R.; SAUKAS, T. N. Associação entre o California Mastitis Test e a Contagem de Células Somáticas na avaliação da saúde da glândula mamária caprina. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 38, n. 1, 2001.

TAPONEN, S.; SALMIKIVI, L.; SIMOJOKI, H.; KOSKINEN, M.T.; PYORALLA, S. Real-time polymerase chain reaction-based identification of bacteria in milk samples from bovine clinical mastitis with no growth in conventional culture. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.2610-2617, 2009.

TONIN, F.B.; NADER FILHO, A. Correlação entre o “California Mastitis Test” e o exame bacteriológico no leite de cabras. **Ars Veterinária**. v. 21, p. 155-159, 2005.

TORRES, C.L.A. **Mamite bovina**. Florianópolis: EMPASC, 1985.

VILANOVA, M.; GONÇALVES, M.; OSÓRIO, M.T.M.; ESTEVES, R.; SCHMIDT, V. Aspectos sanitários do úbere e composição química do leite de cabras Saanen. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 36, n. 3, p. 235-240, 2008.

ZENG, S. S. Comparison of goat milk standards with cow milk standards for analyses of somatic cell count, fat and protein in goat milk. **Small Ruminant Research**, v.21, n.3, p.221-225, 1996.